

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-246554

(43) 公開日 平成11年(1999) 9月14日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
C 0 7 D 403/14	2 0 7	C 0 7 D 403/14	2 0 7
A 6 1 K 31/00	6 0 7	A 6 1 K 31/00	6 0 7 A
	6 4 3		6 4 3 D
31/40	6 0 7	31/40	6 0 7

審査請求 有 請求項の数 8 書面 (全 25 頁)

(21) 出願番号 特願平10-375847

(22) 出願日 平成10年(1998)11月30日

(31) 優先権主張番号 97-64628

(32) 優先日 1997年11月29日

(33) 優先権主張国 韓国 (K R)

(71) 出願人 595061532

シー アンド シー リサーチ ラボラト
リーズ大韓民国 キョンギド ファソングン テ
アンウプ アンニョンリ 146-141

(72) 発明者 グー, ボン・アム

大韓民国ソウルシ ヤンチョング モク 3
ドン 627-1 ドンシンアアパート 7
-708

(72) 発明者 キム, ジョン・ミン

大韓民国キョンギド スウォンシ バルダ
ルグ インゲードン インゲージュゴンア
アパート 126-103

(74) 代理人 弁理士 社本 一夫 (外5名)

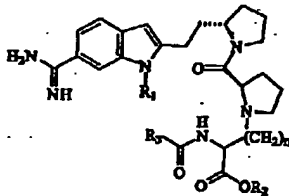
(54) 【発明の名称】 選択的トロンビン抑制剤として有用な芳香族アミジン誘導体

(57) 【要約】

【課題】 経口投与用として特に好ましく使用ができ、
強力な選択的トロンビン抑制活性を表わす化合物を提供
すること。

【解決手段】 下記化学式1

【化1】



(式中、nは1ないし3の整数を表わし、R₁ はハロゲンによって置換されていてもよい低級アルキルを表わし、R₂ は水素または低級アルキルを表わし、R₃ は低級アルキルまたはC₃ -C₇ シクロアルキルを表わす。) で表される芳香族アミジン誘導体及びその薬剤学的に許容される塩。

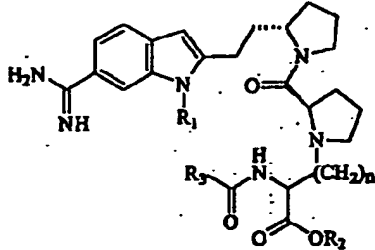
1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記化学式1の化合物及びその薬剤学的に許容される塩：

化学式1

【化1】



式中、

nは1ないし3の整数を表わし、

R₁ はハロゲンによって置換されていてもよい低級アルキルを表わし、

R₂ は水素または低級アルキルを表わし、

R₃ は低級アルキルまたはC₃-C₇ シクロアルキルを表わす。

【請求項2】 nは2または3であり、R₁ はメチル、エチル、プロピル、または2-フルオロエチルを表わし、R₂ は水素またはエチルを表わし、R₃ はメチル、エチルまたはシクロヘキシルを表す請求項1記載の化合物。

【請求項3】 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ) ブタン酸；4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(プロピオニルアミノ) ブタン酸；4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-メチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ) ブタン酸；4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-プロピルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ) ブタン酸；4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-(2-フルオロエチルインドール)-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ) ブタン酸；5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ) 吉草酸；5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリ

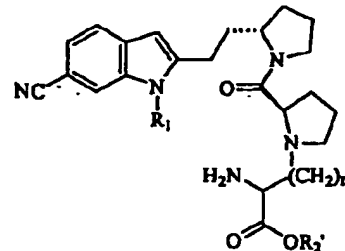
10

【請求項6】 経口投与用製剤に剤形化された請求項4記載のトロンビン抑制剤組成物。

【請求項7】 (a) 下記化学式4の化合物を溶媒中で塩基の存在下でハロゲン化アシルまたは有機カルボン酸と反応させて下記化学式3の化合物を生成させ、(b) 生成された化学式3の化合物のニトリルグループをアミノグループに転換させて下記化学式1bの化合物を製造した後、(c) 必要に応じて化学式1bの化合物を加水分解させて下記化学式1aの化合物を製造することを特徴とする請求項1で定義された化学式1の化合物及びその塩を製造する方法。

化学式4

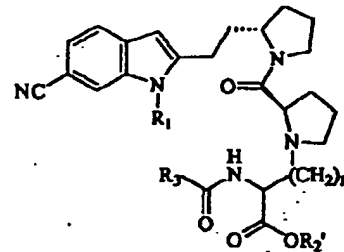
【化2】



30

化学式3

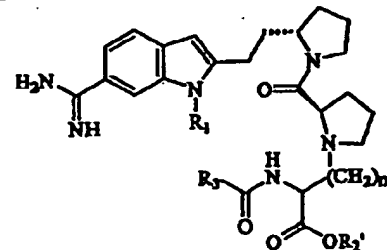
【化3】



40

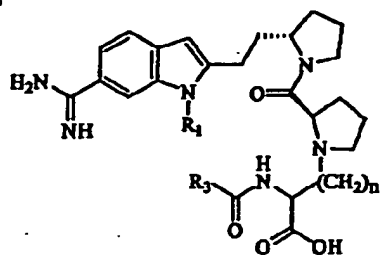
化学式1b

【化4】



50

化学式 1 a
【化5】

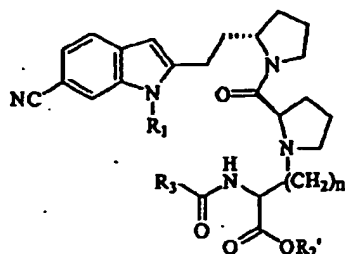


式中、

n 、 R_1 、 R_3 は請求項1で定義した通りであり、 R_2' は請求項1で定義された R_2 と同一であるが、但し水素は除外される。

【請求項8】 下記化学式3の化合物及びその塩：

化学式3
【化6】



式中、

n 、 R_1 、及び R_3 は請求項1で定義した通りであり、 R_3' は請求項1で定義された R_3 と同一であるが、但し水素は除外される。

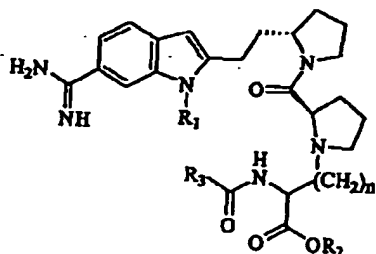
【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明が属する技術分野】本発明は選択的トロニン抑制剤として有用な芳香族アミジン誘導体に関するものである。さらに具体的に、本発明は経口投与用として特に好ましく使用ができ、強力な選択的トロニン抑制活性を表わす下記化学式1の芳香族アミジン誘導体及びその塩、その製造方法、及びその化合物を活性成分として含有することを特徴とするトロニン抑制剤組成物に関する。

【0002】化学式1

【化7】



式中、 n は1ないし3の整数を表わし、 R_1 はハロゲン 50

によって置換されていてもよい低級アルキルを表わし、
R₂ は水素または低級アルキルを表わし、R₃ は低級アルキルまたはC₃ - C₇ シクロアルキルを表わす。

【0003】

【従来の技術】血栓症は血小板の凝集や繊維素凝塊が血管を閉塞させる疾病である。したがって、繊維素形成を遮断する抗凝血剤は血栓症の予防に使用することができる。

【0004】血液凝固システムには多段階の酵素反応によって活性化される多数のザイモゲン（非活性化酵素）が関与する。血液凝固過程の最終段階は因子Xaの作用により、プロトロンビンから生成されたトロンビンによって纖維素原から纖維素凝塊が形成される段階である。

したがって、血液凝固酵素であるトロンビンは止血及び血栓症において中心的な役割を行ない、これによってトロンビン活性が抑制できる物質は血小板活性を抑制し、繊維素生成及び安定化を抑制することによって効果的な抗凝血剤として使用できると期待される。トロンビン抑制剤はまたポジティブフィードバックリアクション (Positive feedback reaction) によって因子V及び因子VIIIを活性化させる。

【0005】最近、多数のトロンビン抑制剤が効果的な血栓症治療剤及び抗凝血剤として開発された。例えばP PACK [D-Phe-Pro-Arg-CH₂Cl, Thromb. Res., 14, 969 (197

9)], D-Phe-Pro-Arg, Boc-D-Phe-Pro-Arg及びD-MePhe-Pro-Arg [J Med. Chem. , 33, 1729 (1990)], DuP-714 [Ac-(D)-Phe-Pro-boroArg-OH, J. Biol. Che

m., 265, 18289 (1990)], エフェガ
 ラン (Efegatran) [D-MePhe-Pro-
 -Arg-H₂SO₄, Thromb. Haemos
 t., 67, 325 (1992)], イノガトラン (I
 nogatran) [HOOC-CH₂-(R)Cha-
 -Pic-Nag, where Cha:cyclohexylamine, Pic:pipecolic acid and Nag:noragmatine, W
 093/11152, BloodCoag. Fibrinol.

no1., 7, 69 (1996)] and CVS-1123 [(CH₃CH₂CH₂)₂-CHCO-Asp(OCH₃)-Pro-Arg, WO93/15756]のようなトリペプチド誘導体及びアガトロバン (Argatroban) [US4258192, Thromb. Haemost., 18, 13 (1992)]及びNAPAP [J. Biol. Chem., 266, 20085 (1991)]のようなヒペリジニアミド誘導体がある。しかし、これら化合物は経口投与による生体内利用率、他のセリンプロテアーゼに比してトロンビンに対する抑制選択性、安定性、作用の持続性及び治療学

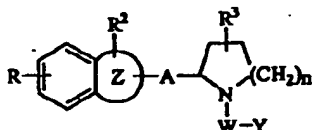
5

的な容量での毒性などの観点から実際使用するのに充分ではない。

【0006】これに対し、本発明者らは経口投与が可能であってトロンビンを選択的に抑制し、効果的に使用できるトロンビン抑制剤を開発すべく集中的な研究を重ねた結果、下記化学式2の化合物が経口投与によっても優れたトロンビン抑制活性を表わし、トリアシンに比し、トロンビンに対して高い選択性を有することを確認し、これを1997年5月31日付で出願した(参照：韓国特許出願第97-22566号)。

【0007】化学式2

【化8】



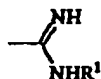
式中、Rは式

【化9】



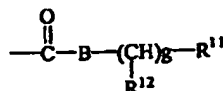
または

【化10】

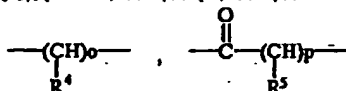


のグループを表わし、ここでR¹は水素、ヒドロキシ、アルキル、アルコキシ、アルキルカルボニル、アルキルカルボニルオキシ、アルアルコキシカルボニルまたは下記式のラジカルを表わし、

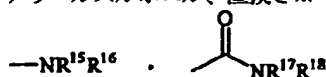
【化11】



ここで、Bは酸素または硫黄を表わし、R¹¹及びR¹²はそれぞれ独立的に水素、ハロアルキル、アルキル*



ここで、o、p及びqはそれぞれ独立的に0ないし3の整数を表わし、R⁴、R⁵及びR⁶はそれぞれ独立に水素、ヒドロキシ、カルボキシ、アルコキシカルボニル、置換されていてもよいアリールスルホニル、置換さ

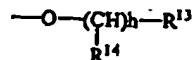


ここで、R¹⁵、R¹⁶、R¹⁷及びR¹⁸はそれぞれ独立に水素、アルキル、アルキルスルホニル、カルボ

6

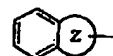
*カルボニルオキシ、ジアルキルアミノ、または置換されていてもよい3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環を表わし、gは0ないし3の整数を表わし、R²は水素、ヒドロキシ、ハロゲン、カルボキシ、アミノカルボニル、アルキル、アルコキシ、ヒドロキシアルキル、アミノアルキル、アルキルカルボニル、アルキルスルホニル、カルボキシアルキル、アミノカルボニルアルキル、アルコキシカルボニルアルキルまたは置換されていてもよいアリールスルホニルを表わし、R³は水素、ハロゲン、アルキル、ヒドロキシアルキル、カルボキシアルキル、アルコキシカルボニルアルキル、アルコキシカルボニル、カルボキシ、アミノ、アミノアルキル、アミノカルボキシ、アミノカルボニルアルキル、または下記式の基を表わし、

【化12】



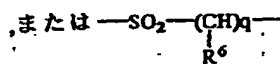
ここで、R¹³及びR¹⁴はそれぞれ独立に水素、アルキルまたは置換されていてもよい3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環を表わし、hは0ないし3の整数を表わし、式

【化13】



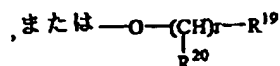
のグループはインドリル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル、ベンゾイミダゾリル、ベンズオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ナフチル、テトラヒドロナフチル、インダニル、ジヒドロベンゾフラニル及びジヒドロベンゾチエニルで構成されたグループの中から選択され、Aはカルボキシ、アルキル、ヒドロキシアルキル、カルボキシアルキル、アルキルカルボニル、アルコキシカルボニル及びアルコキシカルボニルアルキルで構成されたグループの中から選択された1または2個の置換体によって置換されていてもよい飽和または不飽和C₂-C₄アルキレングループを表わし、Wは下記式を表わし、

【化14】



※れていてもよい3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環を表わすか、下記式の基を表わし、

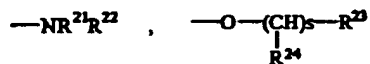
【化15】



★キシアルキル、アルキルカルボニル、アミノカルボニルアルキル、アルコキシカルボニルアルキル、置換されて

7

いてもよいアリールスルホニル、置換されていてもよいアルキル、置換されていてもよい3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環を表わし、 R^{19} 及び R^{20} はそれぞれ独立的に水素、カルボキシ、アミノカルボニルまたはアルコキシカルボニルを表わすか、一つ以上の追加の3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環と融合しうる3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環を表わし、 r は0ないし3の整数であり； Y は水素、または一つ以上の追加の3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環と融合しうる*



ここで、 R^{21} 及び R^{22} はそれぞれ独立的に水素、アルキル、アルキルスルホニル、カルボキシアルキル、アルキルカルボニル、アルコキシカルボニルアルキルまたは置換されていてもよいアリールスルホニルを表わし、 R^{23} 及び R^{24} はそれぞれ独立的に水素、カルボキシ、アミノカルボニル、アルコキシカルボニル、または一つ以上の追加の3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環と融合しうる3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環を表わし、 R^{25} 、 R^{26} 及び R^{27} はそれぞれ独立的に水素、ヒドロキシ、メルカプトチオ、アミノ、カルボキシ、アミノカルボニル、アルコキシ、アルコキシカルボニル、アルキルアミノ、アルキルスルホニルアミノ、アルケニル、アルコキシカルボニルアミノ、アルコキシカルボニルアルキルアミノ、シクロアルキルアミノ、置換されていてもよいアリールスルホニルアミノ、置換されていてもよい3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環を表わし、 s は0ないし3の整数、 t は0ないし6の整数、 u は0ないし8の整数、 n は0ないし2の整数であり、上記定義中、 g 、 h 、 o 、 p 、 q 、 r 、 s 、 t 及び u が3以上の数である場合に該当するアルキレン鎖は直鎖または側鎖のいずれであってもよい。

【0008】

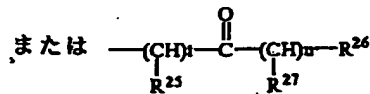
【発明が解決しようとする課題】しかし、本発明者らはこれに止まらず、より優れたトロロンビン抑制剤化合物を開発すべく持続的な研究を行ない、その結果、上記定義された化学式1の芳香族アミジン誘導体が先に本発明者らによって開発された化学式2の化合物より優れた血中持続時間及び生物学的利用率を表わし、経口投与用として非常に好ましく使用できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0009】特に、本発明による芳香族アミジン誘導体は低級アルキルまたはシクロアルキルによって置換されたカルボニルアミノグループを含む構造的特徴により、※50

8

* 3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環を表わし、ここで、この複素環式環または炭素環式環は酸素、ハロゲン、ニトロ、アルキル、ハロアルキル、ヒドロキシアルキル、アリールスルホニル、置換されていてもよいアリールスルホニル、置換されていてもよい3-ないし7-員飽和または不飽和の複素環式環または炭素環式環、及び下記式の基で構成されたグループ中から選択された置換基によって環中のどの位置でも置換されることができ、

10 【化16】



※化学式2の化合物に比して高い生体利用率を表わすものと思われる。このように血中持続時間が長くて生物学的利用率が高いため、本発明による化合物は経口投与用組成物を製造するのに特に好ましく使用されうる（実験例結果参照）。

【0010】

【課題を解決するための手段】したがって、本発明は改善された薬物動力学の性質によって経口投与用トロロンビン抑制剤として使用するのに特に好ましい、上記定義された化学式1の芳香族アミジン誘導体及びその薬剤学的に許容される塩に関するものである。

【0011】本発明はまた、化学式1の化合物及びその塩を製造する方法及びこの化合物を有効成分として含有することを特徴とするトロロンビン抑制剤組成物に関するものである。

【0012】本発明はまた、化学式1の化合物を製造するのに有用に使用することができる中間体化合物を提供する。

【0013】

【発明の実施の形態】本発明による化学式1の化合物中でも好ましい化合物は、 n は2または3であり、 R_1 はメチル、エチル、プロピル、または2-フルオロエチルを表わし、 R_2 は水素またはエチルを表わし、 R_3 はメチル、エチルまたはシクロヘキシルを表わす化合物である。

【0014】本発明によって提供される化学式1の化合物の代表的な例を具体的に表わすと次の通りであり、これは下記表1のように要約されうる：4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸；4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(プロピオニルアミノ)ブタン酸；

9

10

4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミ
ジノ-1-メチルインドール-2-イル) エチル] ピロ
リジニル] カルボニル] ピロリジニル] - (S)-2-
(アセチルアミノ) ブタン酸; 4-[(R)-2-
[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-アロピル
インドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボ
ニル] ピロリジニル] - (S)-2-(アセチルアミ
ノ) ブタン酸; 4-[(R)-2-[[(S)-2-
[2-(6-アミジノ-1-(2-フルオロエチルイン
ドール)-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] 10
ピロリジニル] - (S)-2-(アセチルアミノ) *

* **ブタン酸**; 5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル] - (S)-2-(アセチルアミノ) 吉草酸; 5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル] - (S)-2-(シクロヘキサノイルアミノ) 吉草酸。

【0015】

【表1】

化合物番号	n	R ₁	R ₂	R ₃
1-1	2	C ₂ H ₅	H	CH ₃
1-2	2	C ₂ H ₅	H	C ₂ H ₅
1-3	2	CH ₃	H	CH ₃
1-4	2	C ₂ H ₅	H	CH ₃
1-5	2	C ₂ H ₄ F	H	CH ₃
1-6	3	C ₂ H ₅	H	CH ₃
1-7	3	C ₂ H ₅	H	シクロヘキシル

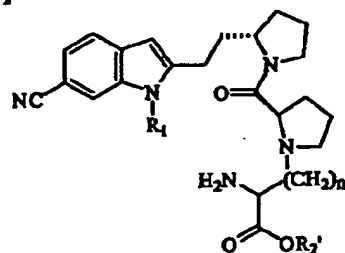
【0016】本発明による化学式1の化合物はまた薬剤学的に許容される塩を形成することができる。かかる薬剤学的に許容される塩には薬剤学的に許容される陰イオンを含有する無毒性酸付加塩を形成する酸、例えば塩酸、硫酸、硝酸、リン酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸などのような無機酸、酒石酸、ギ酸、ホルム酸、クエン酸、酢酸、トリクロロ酢酸またはトリフルオロ酢酸、グルコン酸、安息香酸、乳酸、フマル酸、マレイン酸などのような有機カルボン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸またはナフタレンスルホン酸などのようなスルホン酸などによって形成された酸付加塩が含まれ、合わせてナトリウム、カリウムなどのアルカリ金属との塩が含まれる。

【0017】本発明によるとまた化学式1の化合物を製造する方法が提供される。本発明の方法によると、

(a) 下記化学式4の化合物を溶媒中で塩基の存在下でハロゲン化アシルまたは有機カルボン酸と反応させて下記化学式3の化合物を生成させ、(b) 生成された化学式3の化合物のニトリル基をアミノ基に転換させて下記化学式1bの化合物を製造した後、(c) 必要に応じて化学式1bの化合物を加水分解させて下記化学式1aの化合物を製造することを特徴として化学式1の化合物及びその塩が製造できる。

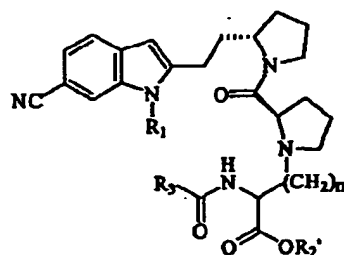
※【0018】化学式4

【化17】



化学式3

【化18】

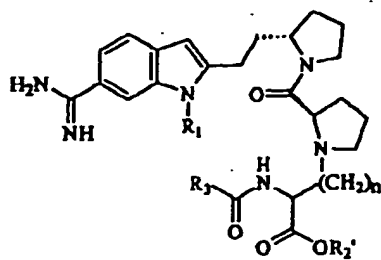


化学式 1 b

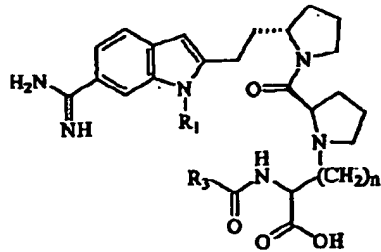
【化19】

※50

11



化学式1a
【化20】



式中、 n 、 R_1 、 R_3 は上記で定義した通りであり、 $R_{2'}$ は R_2 と同一であるが、但し水素は除外される。

【0019】本発明の方法によると、先ず段階(a)では化学式4の化合物をハロゲン化アシルまたは有機カルボン酸と反応させて化学式3の化合物を製造し、この反応は適切な溶媒及び塩基の存在下で行われる。溶媒としては一般的に反応に悪影響を及ぼさない通常のものが使用でき、好ましい溶媒の例としては塩化メチレン、テトラヒドロフラン (THF) 及びクロロホルムの中から選択された1種以上が挙げられる。また、反応を促進させるために添加される塩基としてはトリエチルアミン、 N 、 N -ジイソプロピルエチルアミン及びピリジンの中から選択された1種以上が挙げられる。反応温度は重要ではなく、反応は一般的に冷却ないし加熱下で、好ましくは -10 ないし 50°C で行なう。化学式4の化合物と反応するハロゲン化アシルとしてはアセチルクロリド、プロピオンクロリド、シクロヘキサノイルクロリド、臭化アセチル、臭化プロピオン、臭化シクロヘキサノイルなどが挙げられ、有機カルボン酸としてはプロピオン酸、シクロヘキサン酸などが挙げられる。ハロゲン化アシルまたは有機カルボン酸は化学式4の化合物に対して1ないし4モル倍量、好ましくは1ないし2モル倍量使用する。

12

【0020】段階(b)では段階(a)で生成された化学式3の化合物をハロゲン化水素、好ましくは塩化水素ガスの存在下で反応させた後、アンモニアガスを反応液中に注入して反応させることによってシアノ基がアミジノ基に転換された化学式1bの化合物を製造する。本反応は一般的に溶媒、例えばエタノール、プロパノールなどの C_1 - C_4 アルコール類、ジエチルエーテルなどの脂肪族エーテル類、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、ベンゼンなどの非陽子性溶媒、 N 、 N -ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシドなどの溶媒またはこれらの混合溶媒中で行なうことができる。特に好ましくはエタノールなどのような C_1 - C_4 アルコール溶媒を使用する。反応温度及び時間は特に重要ではないが、一般的に冷却ないし加熱下で2ないし72時間、好ましくは0ないし30 $^{\circ}\text{C}$ の温度で12ないし40時間行なう。

【0021】段階(b)反応によって製造された化学式1bのアミジン誘導体を加水分解させてエステルをカルボン酸に転換させると、化学式1aの化合物が製造される。加水分解は水、アルコール及びテトラヒドロフラン中から選択された1種以上の溶媒中でアルカリ金属の水酸化物のような塩基または無機酸の存在下で行なう。特に好ましい溶媒としては水とアルコールの混合溶媒が挙げられ、塩基としては水酸化カリウム、水酸化ナトリウムまたは水酸化リチウムが好ましく使用でき、無機酸としては塩酸が好ましい。

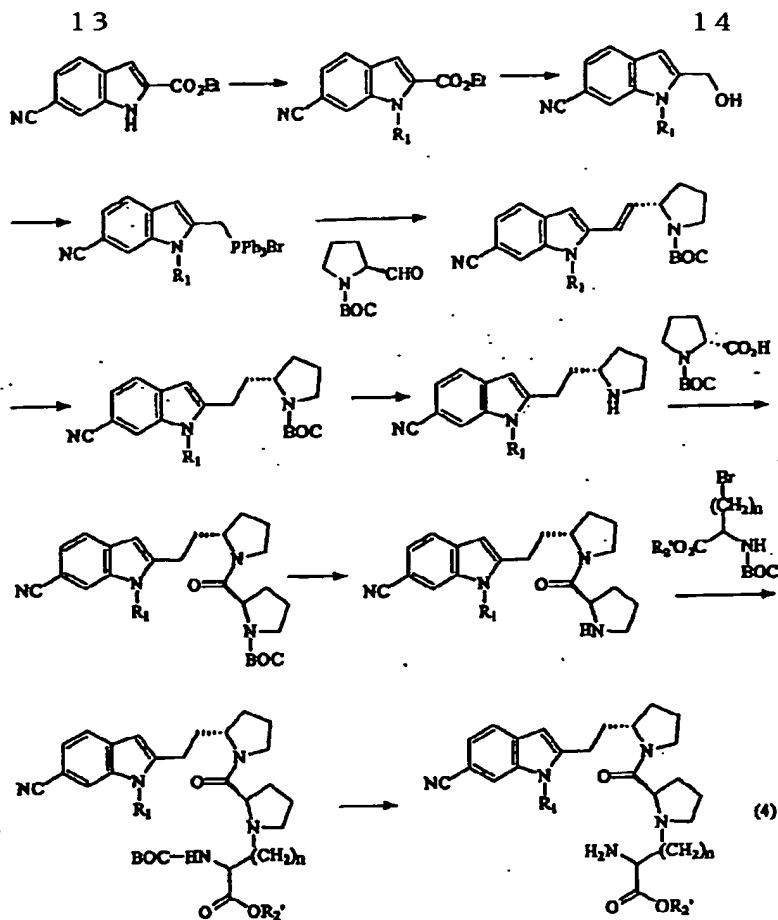
【0022】上記方法によって製造された本発明による化学式1の化合物は通常の方法によって上述のような薬剤学的に許容される塩に転換することができる。生成された化学式1の化合物及びその塩は通常の後処理方法、例えばカラムクロマトグラフィー、再結晶化などの方法によって分離及び精製できる。

【0023】一方、化学式1の化合物を製造する方法で中間体として使用された上記化学式3の化合物は新規の化合物であり、したがって本発明に含まれる。

【0024】本発明の方法において出発物質として使用された化学式4の化合物は下記反応図式1に図示されているような方法によって製造することができる。

【0025】反応図式1

【化21】



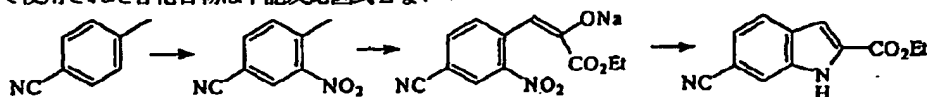
式中、 n 、 R_1 および R_2' は前記で定義した通りであり、BOCはtert-ブトキシカルボニルを表わし、本明細書を通して同一意味として使用される。

【0026】また、上記反応図式1で出発物質または反応物質として使用された各化合物は下記反応図式2ない*

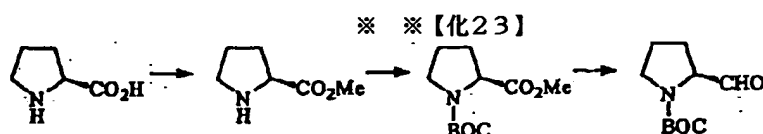
*し4に図示されているような方法によって製造される。

30 【0027】反応図式2

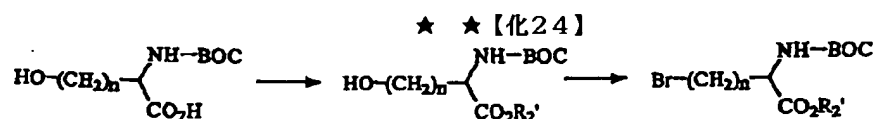
【化22】



反応図式3



反応図式4



上記反応図式に図示されている製造方法は実施例を通してより具体的に説明する。

【0028】本発明はまた活性成分として有効量の化学式1の化合物またはその薬理的に許容される塩と薬理的に許容される担体を含有するトロロニン抑制剤組成物

☆物に関するものである。本発明による組成物は強力なトロロニン抑制活性を表わすので、血栓症予防及び治療剤として有用に使用できる。本発明による化学式1の化合物は特に経口投与によって強力な効果をあらわすので、かかる目的に非常に有用に使用できると期待される。

【0029】本発明の化合物を臨床的な目的で投与する場合、1日当りの有効用量は一般的に体重1kg当り、0.1ないし30mg、好ましくは0.5ないし10mgの範囲が適当であるが、各患者に適合した投与用量は投与される特定化合物、患者の体重、性別、健康状態、食事、投与時間、投与方法、排泄率、併用する薬剤の種類及び疾病の重症度などを考慮して専門家によって任意に決定することができる。

【0030】本発明の化合物は目的にしたがい、経口用製剤及び注射用製剤として投与することができる。

【0031】経口投与用固体投与形態はカプセル剤、錠剤、丸剤、散剤及び粒剤とすることができ、その中でも特にカプセル剤と錠剤が有用である。錠剤及び丸剤は腸溶皮剤に製造するのが好ましい。固体投与形態は本発明による一般式(1)の活性化合物を蔗糖、乳糖、澱粉などのような一つ以上の不活性希釈剤、マグネシウムステアレートのような潤滑剤、崩解剤、結合剤などのような担体と混合させることによって製造することができる。

【0032】上述した通り、本発明による化学式1の化合物を含有する組成物は経口投与用製剤に剤形化して使用する場合、優れた薬効を表わす特徴を有しており、かかる事実はネズミ及び犬を実験動物にして薬物動力学実験を行なった結果、本発明の薬剤学的組成物を経口投与した場合、薬物が血中で長く維持される特性のあることを確認することによって立証された。特に、韓国特許出願第97-22566号に開示されている化合物を比較対象にして薬物動力学パラメータを調べた結果、本発明による化合物は対照化合物に比して血中半減期が2倍ほど増加されて、生物学的利用率も2倍ほど改善されたことが確認できた。したがって、本発明による化合物は既に開発されたどのトロンビン抑制剤よりも経口投与用製剤として効果的に使用することができて、この点でさらに有用であると考えられる。

【0033】化学式1の化合物を含有する組成物はまた当業者に公知の技術によって適合した分散剤、湿潤剤または懸濁化剤を使用して注射用製剤、例えば滅菌注射用水性または油性懸濁液形態に製造することもできる。この際、使用できる水性溶媒には水、リンゲル液、または等張性NaCl溶液があり、滅菌固定オイル(sterilized fixing oil)は通常的に溶媒または懸濁媒質として使用する。モノ-、ジ-グリセリドを含めてどんな無刺激性固定オイルもかかる目的に使用されることができて、またオレイン酸のような脂肪酸も注射用製剤に使用することができる。

【0034】また、実験結果によると、化学式1の化合物はネズミ及び犬のような哺乳類に対して急性毒性を表わさずに目的とする強力なトロンビン抑制効果を表わすことが確認できた。

【0035】以下、本発明を下記実施例及び実験例によってより具体的に説明する。しかし、これら実施例及び

実験例は一つの例示に過ぎず、本発明の範囲がこれらによって制限されるものではない。

【0036】

【実施例1】4-[(R)-2- [[(S)-2- [2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸の合成

(a) 4-メチル-3-ニトロベンゼンカルボニトリルの合成

250mlフラスコに4-メチルベンゼンカルボニトリル(10g)を入れて濃硫酸(30ml)で溶解した後、0℃に冷却させた。そこに濃硫酸(10ml)と混合した硝酸溶液(7ml)を-2ないし0℃で1時間徐々に添加した後、反応液を氷水に注いで攪拌した。生成された沈殿物を濾過して水で3回洗浄した。濾過された固体を乾燥させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v)で精製した。生成物含有分画を合わせて蒸発させ、白色固体の標題化合物11.2gを取得した。

¹H-NMR(CDC1₃): δ=8.30(s, 1H), 7.80(d, 1H), 7.53(d, 1H), 2.7(s, 3H)

(b) エチル 3-(4-(シアノ-2-ニトロフェニル)-2-ナトリウムプロパ-2-エノエート(enolate)の合成

500mlフラスコにナトリウム(2.51g)とTHF(60ml)を入れてエタノール(30ml)を添加した後、室温でナトリウムが全量溶解されるまで攪拌した。そこにTHFに溶解したシュウ酸ジエチル(14.8ml)溶液を徐々に添加して室温で10分間攪拌した後、THFに溶解した4-メチル-3-ニトロベンゼンカルボニトリル(16g)を添加して室温で18時間攪拌した。反応液を蒸発させた後、残渣にジエチルエーテルを添加して生成された沈殿物を濾過してジエチルエーテルで3回洗浄した。濾過された生成物を乾燥させ、褐色固体の標題化合物26.4gを取得した。

(c) エチル-6-シアノインドール-2-カルボン酸エステルの合成

500mlフラスコに上記(b)で取得した化合物(26g)とZn(59.8g)を入れて酢酸(200ml)を添加した後、室温で2時間、60-70℃で4時間攪拌した。反応液を蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v)で精製した。生成物含有分画を合わせて蒸発させ、黄色固体の標題化合物4.16gを取得した。

¹H-NMR(CDC1₃): δ=7.82(m, 2H), 7.42(d, 1H), 7.29(s, 1H), 4.49(m, 2H), 1.47(t, 3H)

(d) エチル 6-シアノ-1-エチルインドール-2

ーカルボン酸エステルの合成

1リットルのフラスコに上記(c)で取得した化合物(23.5g)を入れてDMF(300ml)に溶解させた後、0℃で60%水素化ナトリウム(6.6g)を徐々に添加した。そこに-10~0℃でヨードエタン(17.6ml)を添加した後、室温で2時間攪拌した。反応液を冷却させた後、氷を添加して水で希釈し、酢酸エチルで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO₄)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v)で精製した。生成物を含む分画を合わせて蒸発させ、黄色固体の標題化合物26.2gを取得した。

¹H-NMR(CDCl₃); δ=7.77(m, 2H), 7.34(m, 2H), 4.64(m, 2H), 4.42(m, 2H), 1.43(m, 6H)

(e) 1-エチル-2-(ヒドロキシメチル)インドール-6-カルボニトリルの合成

11フラスコに上記(d)で取得した化合物(26.2g)と重炭酸ナトリウム(0.91g)を入れてTHF(300ml)に溶解した後、0℃に冷却させた。そこにCaI₂·H₂O(47.8g)を添加した後、NaBH₄(6.15g)を徐々に添加した。反応液を0℃から室温まで徐々に温度を上げながら、攪拌した。TLCで反応の完了を確認した後、0℃で水と触媒量の酢酸を加えて攪拌した。反応液中のTHFを蒸発させた後、残渣を水で希釈して、酢酸エチルで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO₄)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/2、v/v)で精製した。生成物を含む分画を合わせて蒸発させ、白色固体の標題化合物18.2gを取得した。

¹H-NMR(CDCl₃); δ=7.63(m, 2H), 7.26(m, 1H), 6.43(s, 1H), 4.83(s, 2H), 4.29(m, 2H), 1.41(t, 3H)

(f) (6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル)メチルトリフェニルホスホニウムブロマイドの合成

500mlフラスコに上記(e)で取得した化合物(18.2g)を入れてメチレンクロリド(塩化メチレン)(200ml)に溶解させた後、0℃に冷却させた。そこにPBr₃(3.45ml)を徐々に添加した後、室温で4時間攪拌した。その後、メチレンクロリド(200ml)を添加して10%炭酸ナトリウム水溶液で洗浄した後、水で希釈してメチレンクロリドで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO₄)蒸発させ、6-シアノ-1-エチル-2-プロモメチルインドールを取得した。取得された化合物をトルエン(200ml)を添加して溶解した後、トリフェニルホスフィン(30.9g)を添加して還流温度で10時間

攪拌した。室温で冷却させてジエチルエーテルを添加して生成された沈殿物を濾過した後、ジエチルエーテルで数回洗浄した。濾過した後、取得された生成物を乾燥させ、淡褐色固体の標題化合物29gを取得した。

(g) メチル (S)-ピロリジン-2-カルボン酸エステルの合成

250mlフラスコにL-プロリン(10g)を入れてメタノール(150ml)に溶解した後、0℃でHClガスを2時間注入して飽和させた。その後、室温で5時間攪拌した後、溶媒を蒸発させ、無色オイルの標題化合物11.2gを取得した。

ES-MS; 130(M+1)⁺, 116

¹H-NMR(CDCl₃); δ=4.50(m, 1H), 3.86(s, 3H), 3.52(m, 2H), 2.48(m, 1H), 2.20(m, 3H)

(h) t-ブチル (S)-2-(メトキシカルボニル)ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成

500mlフラスコに上記(g)で取得した化合物(11.2g)を入れてメチレンクロリド(200ml)に溶解させた後、トリエチルアミン(12ml)を添加して5時間攪拌した。そこに0℃でメチレンクロリド(100ml)に溶解した(Boc)₂O(20.9g)を添加した後、室温で4時間攪拌した。反応液を水で希釈してメチレンクロリドで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥した後(MgSO₄)、蒸発させ、無色オイルの標題化合物19.9gを取得した。

¹H-NMR(MeOH-d₄); δ=4.20(m, 1H), 3.68(s, 3H), 3.37(m, 2H), 2.22(m, 1H), 1.89(m, 3H), 1.41(m, 9H)

(i) t-ブチル (S)-2-ホルミルピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成

500mlフラスコに上記(h)で取得した化合物(9.8g)を入れてトルエン(200ml)に溶解した後、-78℃に冷却させた状態でDIBAL-H(トルエン中の1.0M、85.5ml)を1.5時間徐々に添加した。メタノール(15ml)を添加した後、室温で30分間攪拌した。ロシェル塩(Rochell's salt; 酒石酸ナトリウムカリウム四水和物)水溶液を添加した後、室温で約1時間攪拌して反応液をメチレンクロリドで抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させた後(MgSO₄)、蒸発させ、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v)で精製した。生成物を含む分画を合わせて蒸発させ、無色オイルの標題化合物8gを取得した。

(j) t-ブチル (s)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル)ビニル]ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成

500mlフラスコで、上記(f)で取得した化合物

(17.4 g)と上記(i)で取得した化合物(6.6 g)をTHF:エタノール(1:1、v/v)混合溶媒に溶解した後、1.8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカン-7-エン(6.4 ml)を添加した。室温で15時間攪拌した後、溶媒を蒸発させ、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、黄色オイルの標題化合物7.8 gを取得した。

(k) t-ブチル (S)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジン-1-カルボン酸エステル

500 ml フラスコで、上記(j)で取得した化合物(13 g)をエタノール(250 ml)に溶解させて10% Pd/C (4 g)を徐々に添加した後、水素ガスを注入させ、常温で3時間攪拌した。セライトを通して反応物を濾過した後、溶媒を蒸発させ、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、褐色オイルの標題化合物12 g

を取得した。
¹H-NMR (CDCl₃); δ=7.60 (m, 2H), 7.28 (m, 1H), 6.36 (s, 1H), 4.15 (m, 2H), 3.94 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 3.38 (m, 3H), 2.76 (t, 2H), 1.46 (s, 9H), 1.39 (m, 3H)

(l) 1-エチル-2-[2-(S)-ピロリジン-2-イル)エチル]インドール-6-カルボニトリルの合成

250 ml フラスコで、上記(k)で取得した化合物(3.7 g)をメチレンクロリド(100 ml)に溶解させた後、0℃でトリフルオロ酢酸(18.2 ml)を徐々に添加した。反応液を室温で2時間ほど攪拌した後、メチレンクロリド(100 ml)を添加して水で希釈した。飽和重炭酸ナトリウム水溶液で3回洗浄した後、水層をメチレンクロリドで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させ(MgSO₄)、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=3/1、v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、淡黄色泡状の標題化合物2.2 gを取得した。

¹H-NMR (CDCl₃); δ=7.48 (m, 2H), 7.28 (m, 1H), 6.33 (s, 1H), 4.03 (m, 2H), 3.58 (m, 1H), 3.27 (m, 2H), 2.85 (m, 2H), 2.35 (m, 1H), 2.11 (m, 3H), 2.00 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.27 (t, 3H)

(m) t-ブチル (R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル)エ

チル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成

上記(1)で取得した化合物(17 g)と(R)-N-(t-ブトキシカルボニル)プロリン(17.8 g)をメチレンクロリド(350 ml)に溶解させた後、WSCl·HCl[1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩](18.3 g)を入れて室温で2.5時間攪拌した。反応物に水を加えてメチレンクロリドで2回抽出した後、抽出物を混合して乾燥した後(MgSO₄)、濃縮させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=50/1、v/v)で精製し、白色泡状の標題化合物24 gを取得した。

ES-MS; 465 (M+1)⁺

¹H-NMR (CDCl₃); δ=7.51-7.60 (m, 2H), 7.24-7.32 (m, 1H), 6.33-6.41 (m, 1H), 4.47-4.52 (m, 1H), 4.28-4.40 (m, 1H), 4.16 (q, J=7.15 Hz, 2H), 3.62-3.79 (m, 2H), 3.44-3.50 (m, 2H), 2.79-2.83 (m, 2H), 1.85-2.15 (m, 10H), 1.40-1.43 (m, 9H), 1.35 (t, J=7.20 Hz, 3H)

(n) 1-エチル-2-[2-[(S)-[1-(R)-ピロリジン-2-イル)-カルボニル]ピロリジン-2-イル]エチル]インドール-6-カルボニトリルの合成

出発物質として上記(m)で取得した化合物(24 g)を使用することを除外しては上記(1)と同一に反応させ、白色泡状の標題化合物11 gを取得した。

¹H-NMR (CDCl₃); δ=7.56-7.60 (m, 2H), 7.26-7.31 (m, 1H), 6.43 (s, H), 4.37-4.41 (m, 1H), 4.13-4.20 (m, 3H), 3.61-3.64 (m, 1H), 3.34-3.41 (m, 3H), 2.78-2.81 (m, 2H), 2.38-2.43 (m, 2H), 1.82-2.17 (m, 8H), 1.38 (t, J=7.20 Hz, 3H)

(o) エチル 4-ヒドロキシ-(S)-2-[(t-ブトキシ)カルボニルアミノ]ブタン酸エステルの合成
 (BOC)-L-ホモセリン(1.5 g)をアセトン(15 ml)とジメチルホルムアミド(1.5 ml)の混合液に溶解した後、炭酸カリウム(1.04 g)とヨードエタン(16.4 ml)を加えて室温で3日間攪拌した。反応液を減圧蒸発させた後、酢酸エチルで希釈して水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させて濾過した後、取得された濾液を減圧蒸発させた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/2、v/v)で精製し、白色固体の標題化合物1.6 gを取得した。

21

¹H-NMR (CDCl₃); δ=5.36 (brs, 1H), 4.45-4.53 (m, 1H), 4.22 (q, 2H, J=7.15Hz), 3.62-3.79 (m, 2H), 3.15 (brs, 1H), 2.11-2.19 (m, 1H), 1.61-1.66 (m, 1H), 1.46 (s, 9H), 1.25 (t, 3H, J=7.13Hz)

(p) エチル 4-ブromo-(s)-2-[(t-ブトキシ)カルボニルアミノ]ブタン酸エステルの合成

上記(o)で取得した化合物(863mg)をメチレンクロリド(15ml)に溶解させた後、トリフェニルホスフィン(1.37g)と四臭化炭素(CBr₄; 2.31g)を加えて室温で1.5時間攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて取得された残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/8, v/v)で精製し、白色固体の標題化合物690mgを取得した。

ES-MS: 333 (M+23)⁺

(q) エチル 4-[(R)-2-[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル-(S)-2-[(t-ブトキシ)カルボニルアミノ]ブタン酸エステルの合成

上記(n)で取得した化合物(641mg)と上記

(p)で取得した化合物(600mg)をアセトニトリル(10ml)に溶解した後、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.676ml)を加えて加熱還流条件下で4時間攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて取得された残渣をメチレンクロリドで希釈した後、水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させてろ過した後、ろ液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=20/1, v/v)で精製し、白色泡状固体の標題化合物890mgを取得した。

ES-MS: 593 (M+23)⁺

¹H-NMR (CDCl₃); δ=7.26-7.62 (m, 3H), 6.45 (s, 1H), 6.08-6.11 (m, 1H), 4.10-4.40 (m, 7H), 3.51-3.61 (m, 2H), 3.17-3.32 (m, 2H), 2.70-2.83 (m, 3H), 2.26-2.49 (m, 3H), 1.75-1.99 (m, 10H), 1.29-1.40 (m, 12H), 1.21 (t, 3H, J=7.12Hz)

(r) エチル (S)-2-アミノ-4-[(R)-2-[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]ブタン酸エステルの合成

出発物質に上記(q)で取得した化合物(890mg)を使用することを除外しては上記(1)と同一に反応させて白色泡状の標題化合物625mgを取得した。

22

(s) エチル 4-[(R)-2-[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸エステルの合成

上記(r)で取得した化合物(500mg)をメチレンクロリド(10ml)に溶解した後、トリエチルアミン(0.28ml)を氷槽下で注ぎ、アセチルクロリド(0.08ml)を徐々に滴加した。5分後、反応混合液をメチレンクロリドで希釈させて水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させてろ過した後、ろ液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=20/1, v/v)で精製し、白色泡状固体の標題化合物490mgを取得した。

ES-MS: 536 (M+1)⁺

(t) エチル 4-[(R)-2-[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸エステルの合成

上記(s)で取得した化合物(485mg)をエタノール(50ml)に溶解させて0℃に冷却させた。反応液にHClガスを45分間注入して常温で一晩攪拌した。反応溶媒を減圧濃縮した後、残渣にエタノール(50ml)を加えて溶解し、0℃でアンモニアガスを1時間注入した。常温で一晩攪拌して減圧蒸留した後、残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/エタノール=2/1, v/v)で精製し、微黄色泡状固体の標題化合物317mgを取得した。

ES-MS: 552 (M+1)⁺

(u) 4-[(R)-2-[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸の合成

上記(t)で取得した化合物(315mg)をエタノール(4ml)と水(1.5ml)の混合液に溶解した後、水酸化カリウム(48mg)を加えて室温で一晩攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて取得された残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/エタノール=2/1, v/v)で精製し、微黄色固体の標題化合物253mgを取得した。

ES-MS: 525 (M+1)⁺, 547 (M+23)⁺

¹H-NMR (MeOH-d₄); δ=7.42-8.13 (m, 3H), 6.52-6.58 (m, 1H), 4.21-4.34 (m, 3H), 3.20-4.11 (m, 5H), 1.40-3.15 (m, 20H),

23

1. 17-1. 20 (m, 3H)

【0037】

【実施例2】4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(プロピオニルアミノ)ブタン酸の合成
(a)エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(プロピオニルアミノ)ブタン酸エ

ステルの合成
実施例1の(r)で取得した化合物(620ml)とプロピオン酸(0.103ml)をメチレンクロリド(12ml)に溶解した後、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.44ml)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾル水和物(204mg)、WSCl \cdot HCl(289mg)を順次に氷槽下で注いで室温で一晩攪拌した。反応混合液をメチレンクロリドで希釈させて水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させて濾過した後、濾液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=40/1、v/v)で精製し、白色泡状固体の標題化合物575mgを取得した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl $_3$) ; δ =8.27-8.46 (m, 1H), 7.30-7.59 (m, 3H), 6.41 (s, 1H), 4.70-4.73 (m, 1H), 4.26 (brs, 1H), 4.10-4.18 (m, 4H), 3.38-3.68 (m, 3H), 3.13-3.27 (m, 2H), 2.71-2.80 (m, 3H), 1.65-2.35 (m, 13H), 1.01-1.38 (m, 9H)

(b)エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(プロピオニルアミノ)ブタン酸エステルの合成

上記(a)で取得した化合物(565mg)をエタノール(50ml)に溶解して0℃に冷却させた。HClガスを45分間注入して常温で一晩攪拌した。反応溶液を減圧濃縮した後、残渣にエタノール(50ml)を加えて溶解し、0℃でアンモニアガスを1時間注入した。常温で一晩攪拌して減圧蒸留した後、残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v)で精製し、微黄色泡状固体の標題化合物292mgを取得した。

(c)4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(プロピオニルアミノ)ブタン酸の合成
上記(b)で取得した化合物(290mg)をエタノ-

24

ール(3ml)と水(1.5ml)の混合液に溶解した後、水酸化カリウム(58mg)を加えて室温で一晩攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて取得された残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v)で精製し、微黄色固体の標題化合物170mgを取得した。

ES-MS: 539 (M+1) $^+$

$^1\text{H-NMR}$ (MeOH- d_4) ; δ =7.20-7.81 (m, 3H), 6.29-6.36 (m, 1H), 4.00-4.14 (m, 3H), 3.01-3.58 (m, 4H), 0.73-2.69 (m, 26H)

【0038】

【実施例3】4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-メチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸の合成
(a)エチル 6-シアノ-1-メチルインドール-2-カルボン酸エステルの合成

1リットルのフラスコに実施例1の(c)で取得した化合物(10g)を入れてジメチルホルムアミド(70ml)に溶解した後、0℃で60%水素化ナトリウム(2.24g)を徐々に添加した。-10~0℃でヨードメタン(436ml)を添加した後、室温で2時間攪拌した。反応液を冷却させた後に氷を添加して水で希釈した後、酢酸エチルで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO $_4$)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、黄色固体の標題化合物10.6gを取得した。

(b)1-メチル-2-(ヒドロキシメチル)インドール-6-カルボニトリルの合成

11フラスコに上記(a)で取得した化合物(12.78g)と重炭酸ナトリウム(0.47g)を入れてTHF(150ml)に溶解した後、0℃に冷却させた。そこにCaI $_2 \cdot$ H $_2$ O(19.75g)を添加した後、NaBH $_4$ (3.18g)を徐々に添加した。反応液を0℃から室温まで温度を徐々に上げながら、攪拌した。TLCで反応の完了を確認した後、0℃で氷と触媒量の酢酸を加えて攪拌した。反応液中のTHFを蒸発させた後、残渣を水で希釈して酢酸エチルで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO $_4$)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/2、v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、白色固体の標題化合物8.52gを取得した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl $_3$) ; δ =7.32-7.65 (m, 3H), 6.52 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.23 (d, 2H, J=2.78Hz),

25

2. 72-2. 78 (m, 1H)

(c) (6-シアノ-1-メチルインドール-2-イル)メチルトリフェニルホスホニウムブロマイドの合成
500mlフラスコに上記(b)で取得した化合物

(8.51g)を入れてメチレンクロリド(150ml)に溶解した後、0℃に冷却させた。そこにPBr₃(1.72ml)を徐々に添加した後、室温で4時間攪拌した。その後、メチレンクロリド(150ml)を添加して10%炭酸ナトリウム水溶液で洗浄した後、水で希釈し、メチレンクロリドで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO₄)蒸発させ、6-シアノ-1-メチル-2-ブロモメチル-インドールを取得した。取得された化合物をトルエン(130ml)を添加して溶解した後、トリフェニルホスフィン(13.18g)を添加して還流温度で10時間攪拌した。室温に冷却させてジエチルエーテルを添加して生成された沈殿物を濾過した後、ジエチルエーテルで数回洗浄した。濾過後、取得された生成物を乾燥させ、淡褐色固体の標題化合物20.78gを取得した。

(d) t-ブチル (S)-2-[2-(6-シアノ-1-メチルインドール-2-イル)ビニル]ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成
500mlフラスコで上記(c)で取得した化合物(20.78g)と実施例1の(i)で取得した化合物(7.28g)をTHF:エタノール(1:1, v/v)混合溶媒に溶解した後、1.8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン(9.1ml)を添加した。室温で15時間攪拌した後、溶媒を蒸発させ、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3, v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、黄色オイルの標題化合物8.15gを取得した。

(e) t-ブチル (S)-2-[2-(6-シアノ-1-メチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成
500mlフラスコで上記(b)で取得した化合物(8.15g)をエタノール(150ml)に溶解して10%Pd/C(1.63g)を徐々に添加した後、水素ガスを注入させて常温で3時間攪拌した。セライトを通して反応物を濾過した後、溶媒を蒸発させてシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3, v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、褐色オイルの標題化合物6.8gを取得した。

¹H-NMR(CDCl₃); δ=7.28-7.60(m, 3H), 6.36(s, 1H), 3.94(br s, 1H), 3.71(s, 3H), 3.34-3.48(m, 2H), 2.75-2.80(m, 2H), 1.75-2.19(m, 6H), 1.45(s, 9H)

26

(f) 1-メチル-2-[2-(S)-ピロリジン-2-イル]エチル]インドール-6-カルボニトリルの合成

250mlフラスコで上記(e)で取得した化合物(6.8g)をメチレンクロリド(45ml)に溶解した後、0℃でトリフルオロ酢酸(15ml)を徐々に添加した。反応液を室温で2時間程度攪拌した後、メチレンクロリド(45ml)を添加して水で希釈した。飽和重炭酸ナトリウム水溶液で3回洗浄した後、水層をメチレンクロリドで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO₄)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=3/1, v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、淡黄色泡状の標題化合物4.83gを取得した。

(g) t-ブチル (R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-メチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成

上記(f)で取得した化合物(4.8g)と(R)-N-(t-ブトキシカルボニル)アロリン(4.48g)をメチレンクロリド(100ml)に溶解した後、WSCl·HCl(4.54g)を入れて室温で2.5時間攪拌した。反応物に水を加えてメチレンクロリドで2回抽出した後、抽出物を混合して乾燥させた後(MgSO₄)に濃縮させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=50/1, v/v)で精製し、白色泡状の標題化合物4.16gを取得した。

(h) 1-メチル-2-[2-[[(S)-[1-(R)-ピロリジン-2-イル]カルボニル]ピロリジン-2-イル]エチル]インドール-6-カルボニトリルの合成

出発物質に上記(g)で取得した化合物(4.15g)を使用することを除外しては上記(f)と同一に反応させ、白色泡状の標題化合物3.1gを取得した。

¹H-NMR(CDCl₃); δ=7.27-7.58(m, 3H), 6.41(s, 1H), 4.18-4.22(m, 1H), 3.72(s, 3H), 3.12-3.65(m, 4H), 2.80-2.86(m, 2H), 1.83-2.44(m, 11H)

(i) エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-メチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-[[(t-ブトキシ)カルボニルアミノ]ブタン酸エステルの合成

上記(h)で取得した化合物(822mg)と実施例1の(p)で取得した化合物(800mg)をアセトニトリル(15ml)に溶解した後、N, N-ジイソプロピルエチルアミン(0.82ml)を加えて加熱還流下で

4時間攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて取得された残渣をメチレンクロリドで希釈した後、水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させて濾過した後、濾液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出剤：メチレンクロリド/メタノール=20/1、v/v）で精製し、白色泡状固体の標題化合物900mgを取得した。

¹H-NMR (CDCl₃) : δ=7.29-7.60 (m, 3H), 6.43 (s, 1H), 5.99 (br s, 1H), 4.26-4.37 (m, 2H), 4.07-4.18 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.49-3.57 (m, 2H), 3.14-3.29 (m, 2H), 2.81 (t, 2H, J=7.97 Hz), 2.68-2.77 (m, 1H), 2.26-2.47 (m, 3H), 1.59-2.02 (m, 11H), 1.36 (s, 9H), 1.20 (t, 3H, J=7.13 Hz)

(j) エチル (S)-2-アミノ-4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-メチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]ブタン酸エステルの合成

出発物質に上記(i)で取得した化合物(900mg)を使用することを除外しては上記(f)と同一に反応させ、白色泡状の標題化合物660mgを取得した。

(k) エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-メチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸エステルの合成

上記(j)で取得した化合物(660mg)をメチレンクロリド(12ml)に溶解した後、トリエチルアミン(0.38ml)を氷槽下で注ぎ、アセチルクロリド(0.11ml)を徐々に滴加した。5分後に反応混合液をメチレンクロリドで希釈させて水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させて濾過した後、濾液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出剤：メチレンクロリド/メタノール=20/1、v/v）で精製し、白色泡状固体の標題化合物588mgを取得した。

¹H-NMR (CDCl₃) : δ=8.48-8.65 (m, 1H), 7.27-7.57 (m, 3H), 6.39 (s, 1H), 4.64-4.76 (m, 1H), 4.05-4.28 (m, 3H), 3.69 (s, 3H), 3.03-3.75 (m, 5H), 2.68-2.84 (m, 3H), 1.65-2.39 (m, 17H), 1.25 (t, 3H, J=7.11 Hz)

(l) エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-メチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸エステ

ルの合成

上記(k)で取得した化合物(570mg)をエタノール(50ml)に溶解して0℃に冷却させた。反応液にHClガスを45分間注入して常温で一晩攪拌した。反応溶媒を減圧濃縮した後、残渣にエタノール(50ml)を加えて溶解し、0℃でアンモニアガスを1時間注入した。常温で一晩攪拌して減圧蒸留した後、残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出剤：酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v）で精製し、微黄色泡状固体の標題化合物353mgを取得した。

(m) 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-メチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸の合成

上記(l)で取得した化合物(350mg)をエタノール(4ml)と水(1.5ml)の混合液に溶解した後、水酸化カリウム(73mg)を加えて室温で一晩攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて得られた残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出剤：酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v）で精製し、微黄色固体の標題化合物310mgを取得した。

ES-MS: 511 (M+1)⁺

¹H-NMR (MeOH-d₄) : δ=7.29-7.89 (m, 3H), 6.32-6.43 (m, 1H), 3.89-4.10 (m, 2H), 3.66-3.76 (m, 3H), 3.05-3.65 (m, 4H), 1.30-2.82 (m, 20H)

【0039】

【実施例4】 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-プロピルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸の合成
(a) エチル 6-シアノ-1-プロピルインドール-2-カルボン酸エステルの合成

1リットルのフラスコに実施例1の(c)で取得した化合物(20g)を入れてジメチルホルムアミド(200ml)に溶解した後、0℃で60%水素化ナトリウム(5.6g)を徐々に添加した。-10~0℃で1-ブプロマプロバン(14ml)を添加した後、室温で2時間攪拌した。反応液を冷却させた後、氷を添加して水で希釈した後に酢酸エチルで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO₄)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（溶出剤：酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v）で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、黄色固体の標題化合物24gを取得した。

¹H-NMR (CDCl₃) : δ=7.75 (m, 2H), 7.36 (m, 2H), 4.53 (m, 2H),

29

4. 39 (m, 2H), 1. 82 (m, 2H), 1. 42 (t, 3H, J=7. 12 Hz), 0. 95 (t, 3H, J=7. 40 Hz)

(b) 1-プロピル-2-(ヒドロキシメチル) インドール-6-カルボニトリルの合成

1リットルフラスコに上記(a)で取得した化合物(24g)と重炭酸ナトリウム(0. 78g)を入れてTHF(250ml)に溶解した後、0℃に冷却させた。そこにCaI₂・H₂O(41. 1g)を添加した後、NaBH₄(10. 58g)を徐々に添加した。反応液を0℃から室温まで温度を徐々に上げながら、攪拌した。TLCで反応の完了を確認した後、0℃で氷と触媒量の酢酸を加えて攪拌した。反応液中のTHFを蒸発させた後、残渣を水で希釈して酢酸エチルで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO₄)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤: 酢酸エチル/n-ヘキサン=1/2, v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、白色固体の標題化合物12gを取得した。

¹H-NMR(CDC1₃): δ=7. 61(m, 2H), 7. 29(m, 1H), 6. 51(s, 1H), 4. 83(s, 2H), 4. 14(m, 2H), 2. 13(br, 1H), 1. 82(m, 2H), 0. 96(t, 3H, J=7. 34 Hz)

(c) (6-シアノ-1-プロピルインドール-2-イル)メチルトリフェニルホスホニウムブロマイドの合成
500mlフラスコに上記(b)で取得した化合物(12g)を入れてメチレンクロリド(150ml)に溶解した後、0℃に冷却させた。そこにPBr₃(2ml)を徐々に添加した後、室温で4時間攪拌した。その後、メチレンクロリド(150ml)を添加して10%炭酸ナトリウム水溶液で洗浄した後、水で希釈してメチレンクロリドで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO₄)蒸発させ、6-シアノ-1-プロピル-2-ブロモメチル-インドールを取得した。取得された化合物にトルエン(130ml)を添加して溶解した後、トリフェニルホスフィン(18. 7g)を添加して還流温度で10時間攪拌した。室温に冷却させてジエチルエーテルを添加して生成された沈殿物をろ過した後、ジエチルエーテルで数回洗浄した。ろ過後、得られた生成物を乾燥させ、淡褐色固体の標題化合物23gを取得した。

¹H-NMR(MeOH-d₄): δ=7. 83(m, 3H), 7. 65-7. 55(m, 12H), 7. 49(m, 2H), 7. 22(m, 1H), 6. 13(s, 1H), 3. 57(m, 2H), 1. 44(m, 2H), 0. 68(t, 3H, J=7. 47 Hz)

(d) t-ブチル (S)-2-[2-(6-シアノ-1-プロピルインドール-2-イル)ビニル]ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成

30

500mlフラスコで上記(c)で取得した化合物(23g)と実施例1の(i)で取得した化合物(9. 96g)をTHF:エタノール(1:1, v/v)混合溶媒に溶解した後、1. 8-ジアザビシクロ[5. 4. 0]ウンデク-7-エン(8ml)を添加した。室温で15時間攪拌した後、溶媒を蒸発させ、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤: 酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3, v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、黄色オイルの標題化合物13. 3gを取得した。

ES-MS: 380 (M+1)⁺

¹H-NMR(CDC1₃): δ=7. 61(m, 2H), 7. 29(m, 1H), 6. 64(s, 1H), 6. 53-6. 25(m, 2H), 4. 20-4. 08(m, 3H), 1. 96-1. 75(m, 6H), 1. 43(br, 9H), 0. 95(m, 3H)

(e) t-ブチル (S)-2-[2-(6-シアノ-1-プロピルインドール-2-イル)エチル]ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成

500mlフラスコで上記(d)で取得した化合物(13. 3g)をエタノール(150ml)に溶解させて10%Pd/C(1. 5g)を徐々に添加した後、水素ガスを注入させて常温で3時間攪拌した。セライトを通して反応物をろ過した後、溶媒を蒸発させ、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤: 酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3, v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、褐色オイルの標題化合物9. 56gを取得した。

(f) 1-プロピル-2-[2-((S)-ピロリジン-2-イル)エチル]インドール-6-カルボニトリルの合成

250mlフラスコで上記(e)で取得した化合物(9. 56g)をメチレンクロリド(45ml)に溶解させた後、0℃でトリフルオロ酢酸(29ml)を徐々に添加した。反応液を室温で2時間程度攪拌した後、メチレンクロリド(45ml)を添加して水で希釈した。飽和重炭酸ナトリウム水溶液で3回洗浄した後、水層をメチレンクロリドで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO₄)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤: メチレンクロリド/メタノール=3/1, v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、淡黄色泡状の標題化合物6. 52gを取得した。

ES-MS: 282 (M+1)⁺

¹H-NMR(CDC1₃): δ=7. 49(m, 2H), 7. 23(m, 1H), 6. 31(s, 1H), 3. 93(m, 2H), 3. 72(m, 1H), 3. 22(m, 2H), 2. 83(m, 2H), 2. 36-1. 93(m, 5H), 1. 75-1. 63(m, 3H), 0. 88(t, 3H, J=7. 33 Hz)

31

(g) t-ブチル (R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-プロピルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成

上記(f)で取得した化合物(6.52g)と(R)-N-(t-ブトキシカルボニル)プロリン(5.98g)をメチレンクロリド(100ml)に溶解させた後、WSCl \cdot HCl(9.77g)を入れて室温で2.5時間攪拌した。反応物に水を加えてメチレンクロリドで2回抽出した後、抽出物を混合して乾燥させて(MgSO $_4$)濃縮させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=50/1、v/v)で精製し、白色泡状の標題化合物7.41gを取得した。

(h) 1-プロピル-2-[2-[(S)-[1-((R)-ピロリジン-2-イル)カルボニル]ピロリジン-2-イル]エチル]インドール-6-カルボニトリルの合成

出発物質に上記(g)で取得した化合物(7.41g)を使用することを除外しては上記(f)と同一に反応させ、白色泡状の標題化合物6.47gを取得した。

(i) エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-プロピルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-[(t-ブトキシ)カルボニルアミノ]ブタン酸エステルの合成

上記(h)で取得した化合物(760mg)と実施例1の(p)で取得した化合物(625mg)をアセトニトリル(40ml)に溶解させた後、N,N-ジイソプロピルエチルアミン(0.7ml)を加えて加熱還流条件下で4時間攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて取得された残渣をメチレンクロリドで希釈した後、水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させてろ過した後、ろ液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=20/1、v/v)で精製し、白色泡状固体の標題化合物540mgを取得した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl $_3$); δ =7.60 (m, 2H), 7.30 (m, 1H), 6.36 (s, 1H), 4.41-4.28 (m, 2H), 4.06 (m, 5H), 3.62 (m, 2H), 3.39-3.18 (m, 2H), 2.82 (m, 3H), 2.40 (m, 3H), 2.17-1.95 (m, 10H), 1.38 (s, 9H), 1.23 (t, 3H, J=7.12 Hz), 0.97 (t, 3H, J=7.47 Hz)

(j) エチル (S)-2-アミノ-4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-プロピルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]ブタン酸エステルの合成

出発物質に上記(i)で取得した化合物(540mg) 50

32

を使用することを除外しては上記(f)と同一に反応させ、白色泡状の標題化合物440mgを取得した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl $_3$); δ =7.60 (m, 2H), 7.30 (m, 1H), 6.45 (s, 1H), 4.24 (m, 4H), 4.10 (m, 2H), 3.97 (m, 1H), 3.60 (m, 2H), 3.43 (m, 3H), 2.83 (m, 4H), 2.20 (m, 4H), 1.99 (m, 6H), 1.84-1.77 (m, 8H), 1.28 (t, 3H, J=7.12 Hz), 0.97 (t, 3H, J=7.46 Hz)

(k) エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-プロピルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸エステルの合成

上記(j)で取得した化合物(440mg)をメチレンクロリド(12ml)に溶解させた後、トリエチルアミン(0.24ml)を氷槽下で注ぎ、アセチルクロリド(0.069ml)を徐々に滴加した。4分後、反応混合液をメチレンクロリドで希釈させて水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させてろ過した後、ろ液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=20/1、v/v)で精製し、白色泡状固体の標題化合物410mgを取得した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl $_3$); δ =7.55- (m, 2H), 7.26 (m, 1H), 6.41 (s, 1H), 4.74 (m, 1H), 4.29 (m, 1H), 4.13 (m, 2H), 4.03 (m, 2H), 3.59 (m, 1H), 3.43 (m, 1H), 3.22 (m, 1H), 3.09 (m, 1H), 2.77 (m, 3H), 2.05 (m, 4H), 1.99 (m, 7H), 1.80-1.69 (br, 16H), 1.57 (s, 9H), 1.25 (t, 3H, J=7.24 Hz), 0.94 (t, 3H, J=7.43 Hz)

(l) エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-プロピルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ)ブタン酸エステルの合成

上記(k)で取得した化合物(400mg)をエタノール(40ml)に溶解させて0℃に冷却させた。反応液にHClガスを45分間注入して常温で一晩攪拌した。反応溶媒を減圧濃縮した後、残渣にエタノール(40ml)を加えて溶解させ、0℃でアンモニアガスを1時間注入した。常温で一晩攪拌して減圧蒸留した後、残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v)で精製し、微黄色泡状固体の標題化合物310mg 50

33

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); $\delta=8.65$ (m, 1H), 7.80-7.25 (m, 3H), 6.28 (s, 1H), 4.55 (brs, 1H), 4.22-4.03 (m, 5H), 3.56-2.54 (m, 9H), 2.23-1.62 (m, 17H), 1.21-1.14 (m, 6H)

(m) 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-プロピルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル] - (S)-2-(アセチルアミノ) プタン酸の合成

上記(1)で取得した化合物(300mg)をエタノール(3ml)と水(3ml)の混合液に溶解させた後、水酸化カリウム(73mg)を加えて室温で一晩攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて得られた残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤: 酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v)で精製し、微黄色固体の標題化合物260mgを取得した。ES-MS: 539 (M+1) +

$^1\text{H-NMR}$ (MeOH-d_4); $\delta=7.86-7.26$ (m, 3H), 6.41-6.38 (m, 1H), 4.28-4.05 (m, 3H), 3.91 (m, 1H), 3.62 (m, 1H), 3.47-3.13 (m, 5H), 2.95-1.66 (m, 20H), 0.84-0.81 (m, 3H)

IR (KBr) cm^{-1} ; 3400, 3000, 1640, 1580, 1420

[0040]

【実施例5】 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミノ-1-(2-フルオロエチル) インドール)-2-イル] エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル] - (S)-2-(アセチルアミノ) プタン酸の合成

(a) エチル 6-シアノ-1-(2-フルオロエチル) インドール-2-カルボン酸エステル

1リットルのフラスコに実施例1の(c)で取得した化合物(6g)を入れてジメチルホルムアミド(80ml)に溶解させた後、0℃で60%水素化ナトリウム(1.68g)を徐々に添加した。-10~0℃で1-プロモ-2-フルオロエタン(2.5ml)を添加した後、室温で2日間攪拌した。反応液を冷却させた後に水を添加して水で希釈させた後、酢酸エチルで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO_4)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤: 酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、黄色固体の標題化合物6.8gを取得した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); $\delta=7.77$ (m, 2H), 7.34 (m, 2H), 4.64 (m, 2H), 4.42 (m, 2H), 1.43 (m, 6H)

(b) 1-(2-フルオロエチル)-2-(ヒドロキシ

34

メチル) インドール-6-カルボニトリルの合成

1リットルフラスコに上記(a)で取得した化合物(6.7g)と重炭酸ナトリウム(0.15g)を入れてTHF(100ml)に溶解させた後、0℃に冷却させた。そこに $\text{CaI}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (11.8g)を添加した後、 NaBH_4 (1.52g)を徐々に添加した。反応液の温度を0℃から室温まで徐々に上げながら、攪拌した。TLCで反応の完了を確認した後、0℃で氷と触媒量の酢酸を加えて攪拌した。反応液中のTHFを蒸発させた後、残渣を水で希釈して酢酸エチルで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO_4)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤: 酢酸エチル/n-ヘキサン=1/2、v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、白色固体の標題化合物4.1gを取得した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3); $\delta=7.63$ (m, 2H), 7.26 (m, 1H), 6.43 (s, 1H), 4.83 (s, 2H), 4.29 (m, 2H), 1.41 (t, 3H)

(c) [6-シアノ-1-(2-フルオロエチル) インドール-2-イル] メチルトリフェニルホスホニウムブロマイドの合成

500mlフラスコに上記(b)で取得した化合物(4g)を入れてメチレンクロリド(70ml)に溶解させた後、0℃に冷却させた。そこに PBr_3 (0.7ml)を徐々に添加した後、室温で4時間攪拌した。その後、メチレンクロリド(70ml)を添加して10%炭酸ナトリウム水溶液で洗浄した後、水で希釈してメチレンクロリドで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO_4)蒸発させ、6-シアノ-1-(2-フルオロエチル)-2-プロモエチル-インドールを取得した。取得された化合物にトルエン(80ml)を添加して溶解した後、トリフェニルホスフィン(6.35g)を添加して還流温度で10時間攪拌した。室温に冷却させてジエチルエーテルを添加して生成された沈殿物を濾過した後、ジエチルエーテルで数回洗浄した。濾過後、得られた生成物を乾燥させ、淡褐色固体の標題化合物9gを取得した。

(d) t-ブチル (S)-2-[2-(6-シアノ-1-(フルオロエチル) インドール-2-イル] ビニル] ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成

500mlフラスコで上記(c)で取得した化合物(8.4g)と実施例1の(i)で取得した化合物(3.1g)をTHF:エタノール(4:1、v/v)混合溶媒に溶解した後、1.8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデク-7-エン(3.03ml)を添加した。室温で15時間攪拌した後、溶媒を蒸発させ、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤: 酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v)で精製した。生成物を含有する分画を合わせて蒸発させ、黄色オイルの標題

35

化合物4. 58gを取得した。

(e) t-ブチル (S)-2-[2-(6-シアノ-1-(2-フルオロエチル)インドール-2-イル)エチル]ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成
500mlフラスコで上記(d)で取得した化合物

(4.5g)をエタノール(100ml)に溶解させて10%Pd/C(0.5g)を徐々に添加した後、水素ガスを注入させて常温で4時間攪拌した。セライトを通して反応物を濾過した後、溶媒を蒸発させ、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/n-ヘキサン=1/3、v/v)で精製した。生成物を含む分画を合わせて蒸発させ、微黄色オイルの標題化合物3.4gを取得した。

¹H-NMR(CDCl₃): δ=7.60(m, 2H), 7.28(m, 1H), 6.36(s, 1H), 4.15(m, 2H), 3.94(m, 1H), 3.72(m, 1H), 3.38(m, 3H), 2.76(t, 2H), 1.46(s, 9H), 1.39(m, 3H)

(f) 1-(2-フルオロエチル)-2-[2-(S)-ピロリジン-2-イル)エチル]インドール-6-カルボニトリルの合成

250mlフラスコで上記(e)で取得した化合物(3.3g)をメチレンクロリド(50ml)に溶解させた後、0℃でトリフルオロ酢酸(10.6ml)を徐々に添加した。反応液を室温で2時間程度攪拌した後、メチレンクロリド(50ml)を添加して水で希釈した。飽和重炭酸ナトリウム水溶液で3回洗浄した後、水層をメチレンクロリドで3回抽出した。有機性抽出物を合わせて乾燥させて(MgSO₄)蒸発させた後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=3/1、v/v)で精製した。生成物を含む分画を合わせて蒸発させ、淡黄色泡状の標題化合物2.2gを取得した。

¹H-NMR(CDCl₃): δ=7.48(m, 2H), 7.28(m, 1H), 6.33(s, 1H), 4.03(m, 2H), 3.58(m, 1H), 3.27(m, 2H), 2.85(m, 2H), 2.35(m, 1H), 2.11(m, 3H), 2.00(m, 1H), 1.80(m, 1H), 1.27(t, 3H)

(g) t-ブチル (R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-(2-フルオロエチル)インドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジン-1-カルボン酸エステルの合成

上記(f)で取得した化合物(2.2g)と(R)-N-(t-ブトキシカルボニル)プロリン(2.2g)をメチレンクロリド(40ml)に溶解させた後、WSC I·HCl(3.26g)を入れて室温で2時間攪拌した。反応物に水を加えてメチレンクロリドで2回抽出した後、抽出物を混合して乾燥させて(MgSO₄)濃縮

36

させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=50/1、v/v)で精製し、白色泡状の標題化合物3.0gを取得した。

ES-MS: 465(M+1)⁺

¹H-NMR(CDCl₃): δ=7.51-7.60(m, 2H), 7.24-7.32(m, 1H), 6.36-6.41(m, 1H), 4.47-4.52(m, 1H), 4.28-4.40(m, 1H), 4.16(q, J=7.15Hz, 2H), 3.62-3.79(m, 2H), 3.44-3.50(m, 2H), 2.79-2.83(m, 2H), 1.85-2.15(m, 10H), 1.40-1.43(m, 9H), 1.35(t, J=7.20Hz, 3H)

(h) 1-(2-フルオロエチル)-2-[2-(S)-[1-(R)-ピロリジン-2-イル)カルボニル]ピロリジン-2-イル)エチル]インドール-6-カルボニトリルの合成
出発物質に上記(g)で取得した化合物(2.9g)を使用することを

20 除外しては上記(f)と同一に反応させ、白色泡状の標題化合物2.1gを取得した。

¹H-NMR(CDCl₃): δ=7.56-7.60(m, 2H), 7.26-7.31(m, 1H), 6.43(s, 1H), 4.37-4.41(m, 1H), 4.13-4.20(m, 3H), 3.61-3.64(m, 1H), 3.34-3.41(m, 3H), 2.78-2.81(m, 2H), 2.38-2.43(m, 2H), 1.82-2.17(m, 8H), 1.38(t, J=7.20Hz, 3H)

30 (i) エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-(2-フルオロエチル)インドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-[(t-ブトキシ)カルボニルアミノ]ブタン酸エステルの合成

上記(h)で取得した化合物(900mg)と実施例1の(p)で取得した化合物(730mg)をアセトニトリル(40ml)に溶解させた後、N, N-ジイソプロピルエチルアミン(0.84ml)を加えて加熱還流条件下で4時間攪拌した。反応混合物を減圧蒸発させて取得された残渣をメチレンクロリドで希釈した後、水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させて濾過した後、濾液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=20/1、v/v)で精製し、白色泡状固体の標題化合物820mgを取得した。

¹H-NMR(CDCl₃): δ=7.58(m, 2H), 7.30(m, 1H), 6.24(s, 1H), 4.49(m, 1H), 4.34(m, 1H), 4.14(m, 1H), 4.07(m, 1H), 3.95(b r, 1H), 3.82(m, 2H), 3.25(m, 2

50

H), 2.93 (m, 2H), 2.56 (m, 3H), 2.02 (m, 4H), 1.68 (br, 7H), 1.50 (m, 4H), 1.15 (s, 9H), 0.98 (m, 3H)

(j) エチル (S)-2-アミノ-4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-(2-フルオロエチル) インドール-2-イル] エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル] ブタン酸エステルの合成

出発物質に上記(i)で取得した化合物(820mg) 10 を使用することを除外しては上記(f)と同一に反応させ、白色泡状の標題化合物630mgを取得した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃); δ =7.58 (m, 2H), 7.37 (m, 1H), 6.43 (s, 1H), 4.82 (m, 1H), 4.67 (m, 1H), 4.56 (m, 1H), 4.47 (m, 1H), 4.18 (m, 3H), 3.94 (m, 1H), 3.22 (m, 1H), 2.86 (m, 3H), 2.50 (m, 1H), 2.33 (m, 1H), 2.18-2.00 (m, 8H), 1.81-1.74 (m, 5H), 1.27 (m, 3H)

(k) エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-(2-フルオロエチル) インドール-2-イル] エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル] - (S)-2-(アセチルアミノ) ブタン酸エステルの合成

上記(j)で取得した化合物(628mg)をメチレンクロリド(12ml)に溶解させた後、トリエチルアミン(0.34ml)を水槽下で注ぎ、アセチルクロリド(0.095ml)を徐々に滴加した。5分後、反応混合液をメチレンクロリドで希釈させて水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させて濾過した後、濾液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=20/1、v/v)で精製し、白色泡状固体の標題化合物530mgを取得した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃); δ =7.59 (m, 2H), 7.35 (m, 1H), 6.48 (s, 1H), 4.79 (m, 1H), 4.70 (m, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.46 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 4.34 (br, 1H), 4.16 (m, 2H), 3.61 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.24 (m, 1H), 3.12 (m, 1H), 2.83 (m, 2H), 2.31 (m, 2H), 2.02 (m, 3H), 2.00 (m, 5H), 1.73 (m, 8H), 1.29 (m, 3H)

(l) エチル 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-(2-フルオロエチル) インドール-2-イル] エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル] - (S)-2-(アセチルアミノ) 50

ブタン酸エステルの合成

上記(k)で取得した化合物(530mg)をエタノール(50ml)に溶解させて0℃に冷却させた。反応液にHClガスを45分間注入して常温で一晩攪拌した。反応液を減圧濃縮した後、残渣にエタノール(50ml)を加えて溶解させ、0℃でアンモニアガスを1時間注入した。常温で一晩攪拌して減圧蒸留した後、残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v)で精製し、微黄色泡状固体の標題化合物430mgを取得した。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl₃); δ =8.10 (m, 1H), 7.50-7.39 (m, 2H), 6.37 (s, 1H), 4.82-4.49 (m, 4H), 4.27-4.11 (m, 2H), 3.61-3.10 (m, 4H), 2.83-2.67 (m, 3H), 2.30-1.74 (m, 18H)

(m) 4-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-(2-フルオロエチル) インドール-2-イル] エチル] ピロリジニル] カルボニル] - ピロリジニル] - (S)-2-(アセチルアミノ) ブタン酸の合成

上記(l)で取得した化合物(430mg)をエタノール(4ml)と水(4ml)の混合液に溶解させた後、水酸化カリウム(85mg)を加えて室温で一晩攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて得られた残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v)で精製し、微黄色固体の標題化合物230mgを取得した。

ES-MS: 543 (M+1)⁺, 272 (M/2+1)

$^1\text{H-NMR}$ (MeOH-d₄); δ =7.86 (m, 1H), 7.52 (m, 1H), 7.31 (m, 1H), 6.45 (s, 1H), 4.56-4.43 (m, 2H), 4.09 (m, 2H), 3.65-3.45 (m, 2H), 3.11 (m, 1H), 2.78 (m, 2H), 2.00-1.67 (m, 18H) IR (KBr); 3400, 1620, 1470

[0041]

【実施例6】5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル] - (S)-2-(アセチルアミノ) 吉草酸の合成

(a) ベンジル5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル] - (S)-2-[(*t*-ブトキシ) カルボニルアミノ] 吉草酸エステルの合成

実施例1の(n)で取得した化合物(921mg)とベンジル 5-ブromo-(S)-2-[(*t*-ブトキシ)

39

カルボニルアミノ] 吉草酸エステル (1.1 g) をアセトニトリル (50 ml) に溶解させた後、そこに N, N-ジイソプロピルエチルアミン (0.53 ml) を加えて加熱還流条件下で 4 時間攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて得られた残渣をメチレンクロリドで希釈して水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させて濾過した後、濾液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出剤: メチレンクロリド/メタノール=20/1、v/v) で精製し、白色泡状固体の標題化合物 1.17 g を取得した。

ES-MS: 670 (M+1)⁺

¹H-NMR (CDCl₃); δ=7.63-7.37 (m, 2H), 7.35-7.28 (m, 6H), 6.45-6.35 (m, 1H), 5.87 (brs, 1H), 5.20-5.12 (m, 2H), 4.32-4.13 (m, 4H), 3.57-3.19 (m, 5H), 2.83-2.74 (m, 2H), 2.66-1.53 (m, 16H), 1.42 (s, 9H), 1.39-1.28 (m, 3H)

(b) ベンジル (S)-2-アミノ-5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル] 吉草酸エステルの合成

出発物質に上記 (a) で取得した化合物 (800 mg) を使用することを除外しては実施例 1 の (1) と同一に反応させ、白色泡状の標題化合物 612 mg を取得した。

¹H-NMR (CDCl₃); δ=7.47-7.40 (m, 2H), 7.38-7.34 (m, 6H), 6.45-6.36 (m, 1H), 5.16 (d, 2H, J=10.33 Hz), 4.34-4.15 (m, 3H), 3.72-3.26 (m, 8H), 2.85-2.74 (m, 2H), 2.57-1.55 (m, 14H), 1.38-1.33 (m, 3H)

(c) ベンジル 5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ) 吉草酸エステルの合成

上記 (b) で取得した化合物 (400 mg) をメチレンクロリド (8 ml) に溶解させた後、トリエチルアミン (0.12 ml) を氷槽下で注ぎ、アセチルクロリド (0.06 ml) を徐々に滴加した。5 分後、反応混合液をメチレンクロリドで希釈させて水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させて濾過した後、濾液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出剤: メチレンクロリド/メタノール=20/1、v/v) で精製し、白色泡状固体の標題化合物 310 mg を取得した。

ES-MS: 611 (M)⁺

40

(d) エチル 5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ) 吉草酸エステルの合成

上記 (c) で取得した化合物 (300 mg) をエタノール (30 ml) に溶解させた後、0℃ に冷却させた。反応液に HCl ガスを 45 分間注入して常温で一晩攪拌した。反応溶媒を減圧濃縮した後、残渣にエタノール (30 ml) を加えて溶解させ、0℃ でアンモニアガスを 1 時間注入した。常温で一晩攪拌して減圧蒸留した後、残渣を NH-DM1020 シリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出剤: 酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v) で精製し、微黄色泡状固体の標題化合物 145 mg を取得した。

(e) 5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(アセチルアミノ) 吉草酸の合成

上記 (d) で取得した化合物 (145 mg) をエタノール (1.5 ml) と水 (1.5 ml) の混合液に溶解させた後、水酸化カリウム (50 mg) を加えて室温で一晩攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて得られた残渣を NH-DM1020 シリカゲルカラムクロマトグラフィー (溶出剤: 酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v) で精製し、微黄色固体 120 mg を取得した。

ES-MS: 539 (M+1)⁺, 577 (M+38)⁺

¹H-NMR (MeOH-d₄); δ=8.01-7.30 (m, 3H), 6.44-6.39 (m, 1H), 4.22-4.08 (m, 5H), 3.63-3.50 (m, 3H), 3.37-3.09 (m, 2H), 2.99-2.41 (m, 5H), 2.27-1.38 (m, 15H), 1.31-1.26 (m, 3H)
IR (KBr) cm⁻¹; 3400, 1640, 1580, 1470, 1420

【0042】

【実施例 7】 5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(シクロヘキサノイルアミノ) 吉草酸の合成

(a) ベンジル 5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-シアノ-1-エチルインドール-2-イル) エチル] ピロリジニル] カルボニル] ピロリジニル]-(S)-2-(シクロヘキサノイルアミノ) 吉草酸エステルの合成

実施例 6 の (b) で取得した化合物 (385 mg) をメチレンクロリド (25 ml) に溶解させた後、シクロヘキサノ酸 (0.13 ml)、N, N-ジイソプロピルエ

41

チルアミン(0.17ml)、WSCl・HCl(194mg)を順次に水槽下で注いで室温で一晩攪拌した。反応混合液をメチレンクロリドで希釈して水で洗浄した。無水硫酸マグネシウムで乾燥させて濾過した後、濾液を減圧蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:メチレンクロリド/メタノール=40/1、v/v)で精製し、白色泡状固体の標題化合物426mgを収得した。

ES-MS: 680 (M+1)⁺

(b) エチル 5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(シクロヘキサノイルアミノ)吉草酸エステルの合成

上記(a)で収得した化合物(426mg)をエタノール(40ml)に溶解させて0℃に冷却させた。反応液にHClガスを45分間注入して室温で一晩攪拌した。反応溶液を減圧濃縮した後、残渣にエタノール(40ml)を加えて溶解させ、0℃でアンモニアガスを1時間注入した。室温で一晩攪拌して減圧蒸留した後、残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v)で精製し、微黄色泡状固体の標題化合物270mgを収得した。

(c) 5-[(R)-2-[[(S)-2-[2-(6-アミジノ-1-エチルインドール-2-イル)エチル]ピロリジニル]カルボニル]ピロリジニル]-(S)-2-(シクロヘキサノイルアミノ)吉草酸の合成

上記(b)で収得した化合物(260mg)をエタノール(3ml)と水(3ml)の混合液に溶解させた後、水酸化カリウム(87mg)を加えて室温で一晩攪拌した。反応混合液を減圧蒸発させて得られた残渣をNH-DM1020シリカゲルカラムクロマトグラフィー(溶出剤:酢酸エチル/エタノール=2/1、v/v)で精製し、微黄色固体の標題化合物172mgを収得した。

ES-MS: 607 (M+1)⁺

¹H-NMR (MeOH-d₄) ; δ=7.90-7.30 (m, 3H), 6.43-6.39 (m, 1H), 4.20-4.10 (m, 4H), 3.62-3.49 (m, 2H), 3.38-2.40 (m, 7H), 2.25-1.20 (m, 25H), 1.11-1.05 (m, 3H)

42

IR (KBr) cm⁻¹ ; 3400, 1640, 1540, 1470, 1420

【0043】

【発明の効果】

【実験例1】トロンビンに対する抑制活性

マイクロプレートのウェル(well)に50%メタノールに溶解させた各濃度の本発明の化合物20μlを分注した後、125mM NaCl、50mMトリスHCl (pH8.0)及び250μM合成基質(N-ベンゾイル-Phe-Val-Arg-p-ニトロアニリド、Sigma B-7632)を含有する反応媒質160μlを添加した。そこに0.1%牛血清アルブミンを含有するヒトトロンビン溶液(5単位/ml、Sigma (シグマ) T-6759, Sigma Co. (シグマ社)製造)20μlを加えて常温で反応を開始させ、20分後に405nmで基質の加水分解程度を吸光度で測定した。本発明の化合物を添加しなかったときの吸光度変化を基準に1/2の吸光度変化を表した本発明の化合物の濃度をIC₅₀値として表示してトロンビン抑制活性を表した。本発明のトロンビン抑制活性に対する上記の測定結果は下記の表2に示した。

【0044】

【実験例2】ラット血しょうにおけるトロンビン時間(thrombin time: TT)測定

一晩絶食させた体重220±20g(6~7週齢)のS.D.系雄ラットを使用して薬物投与直前に心臓から採血し、50%PEG400に溶解させた本発明の化合物を経口投与した後、30、60、120、240分毎に採血した。この血液に0.108Mクエン酸ナトリウムを9:1の比で混合して4℃で5分間15,000rpmで遠心分離して血しょうだけを採取し、TT測定前まで-20℃で保管した。TTは次のような方法によって測定した。血しょう50μlにオーレンス緩衝液(Owren's buffer)200μlを加え、希釈された血しょうを血液凝固測定用バイアルに100μlを分注した後、37℃で2分間培養した。このバイアルに予め培養して置いた20U/mlのトロンビン100μlを加えて凝血が起こるまでの時間(TT)を測定した。薬物投与後のラット血しょうのTTと薬物投与前のラット血しょうのTTの量を求めて下記の表2に表した。

【0045】

【表2】

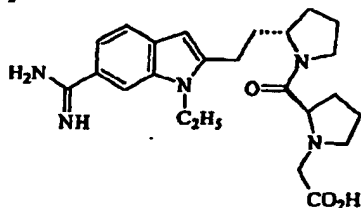
トロンビンに対する抑制活性及びラットにおける薬物投与前後の血し

ょうTT比率

化合物番号	トロンビン抑制活性 (IC ₅₀ : nM)	血しょうTT比	
		30 mg/kg	50 mg/kg
実施例1	20.5	3.13	4.10
実施例2	31.1		
実施例3	49.2		
実施例4	20.4		
実施例5	17.8		
実施例6	36.3		
実施例7	83.9		
対照化合物(*)	15.9	2.62	7.83

(*) 対照化合物は韓国特許出願第97-22566号の88番化合物:

【化25】



【0046】

【実験例3】薬物動力学試験

試験方法: 体重 220 ± 20 g、S. D. 系の雄ラットを24時間絶食させた後にエーテル麻酔させて大腿部静脈と動脈にカニューレを挿入した後、生理食塩水に溶解させた実施例1の化合物を静脈注射と経口投与した。各時間別に採血した血液に即時メタノールを加えて遠心分離(15,000 rpm、5分、4℃)した後、上層を定量的に採取して254 nmでDAD検出器(Diode Array Detector: ダイオードアレイディテクター)を使用してHPLCで血液中の薬物濃度*40

*を分析した。

試験結果: 実施例1の化合物を静脈及び経口投与した後、に分析された時間別血中濃度を表3及び表4にそれぞれ記録し、薬物動力学のパラメータを表5に記録した。これらの表に記録された結果から判るように、実施例1の化合物は静脈内投与したとき血中から体内に速やかに分布されて徐々に消失された。また経口投与のとき実施例1の化合物は速やかに吸収され、血中持続時間が長くて血中消失半減期(elimination half-life)は253分であり、生物学的利用率は61.1%で非常に優れた結果を表した。特に実施例1の化合物と対照化合物(韓国特許出願第97-22566号の88番化合物)の薬物学的実験パラメータに対する表5の結果から判るように、実施例1の化合物は対照化合物と比較して血中持続時間及び生物学的利用率が2倍程度改善された。

【0047】

【表3】

45

46

ラットに実施例1の化合物5 mg / kg を静脈内投与した後の血中濃

度

時間 (h)	血中濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)						
	ラット1	ラット2	ラット3	ラット4	ラット5	平均値	SE
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.033	10.786	9.098	10.885	15.695	3.821	10.057	3.816
0.082	5.236	4.694	5.508	8.187	2.755	5.276	1.745
0.250	1.772	1.502	1.730	2.326	1.713	1.809	0.275
0.500	0.747	0.594	0.642	1.147	1.238	1.874	0.267
1.000	0.678	0.179	0.168	0.357	1.030	0.482	0.330
2.000	0.157	0.118	0.099	0.102	0.488	0.193	0.149
4.000	0.105	0.200	0.000	0.000	0.078	0.128	0.053
6.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
24.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

【0048】

* * 【表4】

ラットに実施例1の化合物50 mg / kg を経口投与した後の血中濃

度

時間 (h)	血中濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)				
	ラット1	ラット2	ラット3	平均値	SE
0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
0.082	5.869	5.380	1.953	4.401	2.134
0.250	6.322	4.703	2.922	4.649	1.701
0.500	4.039	3.196	2.748	3.328	0.656
1.000	1.686	0.908	0.857	1.150	0.464
2.000	0.497	0.793	1.651	0.981	0.599
4.000	1.281	0.525	1.040	0.949	0.386
6.000	1.390	0.521	0.864	0.925	0.438
24.000	0.039	0.000	0.000	0.013	0.023

【0049】

※ ※ 【表5】

47

ラットにおける実施例1の化合物と対照化合物の薬物動力学のパラメ

ータ

パラメータ	平均±誤差	
	実施例1の化合物 (50mg/kg, p.o.)	対照化合物 (韓国特許出願第97-2 2566号88番化合物) (100mg/kg, p.o.)
最高血中濃度 (μg/ml)	4.875±1.434	11.480±2.134
血中消失半減期 (hr)	4.221±1.972	2.36±0.79
血中濃度曲線下面積 (AUC _{0-∞} , μg/ml)	14.120±2.225	15.93±7.51
生物学的利用率 (%)	61.122±9.632	32.63 32.42 32.63±7.69